

AMFETAMINE urinarie in GC/MS – Cod. GC43010
(Amfetamina, Metamfetamina, 3,4-MDMA, 3,4-MDA, 3,4-MDE, MBDB)
Metodo di conferma in GC-MS

INTRODUZIONE

Le Amfetamine sono droghe sintetiche psicoattive con una lunga storia di uso ed abuso.

La loro determinazione di screening nei liquidi biologici (soprattutto in urina) viene generalmente effettuata usando tecniche immunometriche con l'ausilio di anticorpi monoclonali e successiva marcatura con vari reagenti.

Poiché tali tecniche non possono escludere falsi positivi, le positività allo screening devono essere confermate con tecnica alternativa, generalmente con tecnica cromatografia sia Gassosa (GC) che Liquida (LC) entrambe accoppiate con detector di Massa (MS). Il presente metodo consente di determinare la Amfetamina, la Metamfetamina, la 3,4-MDMA, la 3,4-MDA, la 3,4-MDE e l'MBDB con lettura in GC/MS.



EUREKA S.R.L. LAB DIVISION
Via M. D'Antona 28
60033 Chiaravalle (AN) - Italy
Tel. +39 071 7450790
eureka-support@sentinel.it
www.eurekakit.com



Questo prodotto adempie a tutte le esigenze della Direttiva 98/79/CE sui dispositivi medico-diagnostici in vitro (IVD). La dichiarazione di conformità CE è disponibile su richiesta.

N° 013	Amfetamine urinarie in GC/MS	08/2024
--------	------------------------------	---------

CARATTERISTICHE DEL KIT

Principio del metodo :

Il presente metodo consente di determinare l' **Amfetamina**, la **Metamfetamina**, il **3,4-MDMA (Ecstasy)**, il **3,4-MDA**, il **3,4-MDE** e la **MBDB** urinari previa estrazione SPE, derivatizzazione e lettura in GC-MS.

Recupero del Metodo :

Amfetamina	98%	3,4-MDE	90%
Metamfetamina	98%	3,4-MDMA	98%
3,4-MDA	98%		
MBDB	87%		

Sensibilità del Metodo :

50,0 ng/ml

Range dinamico del metodo :

50 – 10.000 ng/ml

Valore di cut-off:

Amfetamina	250 ng/ml
Metamfetamina	250 ng/ml
3,4-MDMA	250 ng/ml
3,4-MDA	250 ng/ml
3,4-MDE	250 ng/ml
MBDB	250 ng/ml

Rif. Procedure applicative del procedimento n.99/cu 30 ottobre 2007

LOD:

12 ng/ml

LOQ:

40 ng/ml

Contenuto della Confezione (50 test):

Tutti i reagenti sono pronti all'uso e stabili 3 anni a 2 – 8 °C.

Reagente A – Soluzione Tampone, **1 x 50 ml**

Reagente B – Soluzione di Condizionamento N°1, **1 x 50 ml**

Reagente C – Soluzione di Condizionamento N°2, **1 x 50 ml**

Reagente D – Soluzione di Lavaggio N°1, **1 x 50 ml**

Reagente E – Soluzione di Lavaggio N°2, **1 x 50 ml**

Reagente F – Soluzione di Lavaggio N°3, **1 x 50 ml**

Reagente G – Soluzione Eluente, **1 x 50 ml**

Reagente H – Soluzione Derivatizzante 1, **5 x 1 ml**

Reagente I – Soluzione Derivatizzante 2, **2 x 1 ml**

Reagente J – Soluzione Test, **1 x 0,5 ml**

Vedi Avvertenze

Reagente K – Soluzione Standard Interno, **1 x 300 µl**

Calibratore liofilo urinario – Livello 1, 2 x 5 ml

Calibratore liofilo urinario – Livello 2, 2 x 5 ml

Calibratore liofilo urinario – Livello 3, 2 x 5 ml

Calibratore liofilo urinario – Livello 4, 2 x 5 ml

Calibratore liofilo urinario – Livello 5, 2 x 5 ml

Colonne di Clean up, 50 pz

Codice CC43016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Codice CC43016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Codice CC43016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Codice CC43016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Codice CC43016 (confezionato a parte – vedi scheda tecnica)

Dotazione strumentale minima richiesta :

Strumento GC-MS
Computer gestionale

Dotazione opzionale :

Autocampionatore

Modalità di prelievo urinario :

Prelevare 10 ml urina
Stabile per circa 3 mesi a –20 °C

PROCEDURA PREANALITICA:

FASE 1 : In una provetta di vetro con tappo in teflon pipettare :

- 100 µl di **Reagente J – Soluzione Test**
- 10 µl di **Reagente K – Soluzione Standard Interno**

Portare a secco con un l'ausilio di un flusso di Elio o di Azoto (in questo step la Temperatura di lavoro deve essere < 40 °C).

FASE 2 : Riprendere con 100 µl di **Reagente H – Soluzione Derivatizzante 1**

Al vortex per 20 secondi

FASE 3 : Porre in stufa a 80 °C per 5 minuti

Lasciar raffreddare

FASE 4 : Aggiungere 30 µl di **Reagente I – Soluzione Derivatizzante 2**

Al vortex per 20 secondi

FASE 5 : Porre in stufa a 80 °C per 5 minuti

FASE 6 : Trasferire tutto il campione nelle vials con riduttore di volume

NOTA : Prima di iniziare la seduta analitica è consigliabile iniettare 1 µl di questa soluzione in GC per identificare il tempo di ritenzione delle Amfetamine che deve essere simile a quello riportato nelle Fig. sottostanti. Se il Test ha dato esito positivo si può procedere alla seduta analitica. Se così non fosse verificare la funzionalità del sistema analitico.

PROCEDURA ANALITICA:

Diluire il **Reagente K – Soluzione Standard Interno** 1:10 con Acqua di grado HPLC, preparando il volume sufficiente per coprire i campioni della seduta analitica.

N.B.: tale diluizione va preparata fresca ad ogni seduta analitica

FASE 1 : Condizionamento delle colonne di Clean-up

- Versare in colonna 1 ml di **Reagente B – Soluzione di Condizionamento N°1**
Scartare l'eluato
- Versare in colonna 1 ml di **Reagente C – Soluzione di Condizionamento N°2**
Scartare l'eluato

FASE 2 : Preparazione dei campioni
Fare la curva di Calibrazione su 5 punti:

	Calibratore – Livello 1	Calibratore – Livello 2	Calibratore – Livello 3	Calibratore – Livello 4	Calibratore – Livello 5	Campione	Controlli
Calibratore liofilo urinario – Livello 1	1,0 ml						
Calibratore liofilo urinario – Livello 2		1,0 ml					
Calibratore liofilo urinario – Livello 3			1,0 ml				
Calibratore liofilo urinario – Livello 4				1,0 ml			
Calibratore liofilo urinario – Livello 5					1,0 ml		
Campione						1,0 ml	
Controlli							1,0 ml
Reagente A – Soluzione Tampone	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Reagente K – Sol. Std Interno (diluito 1:10 in Acqua grado HPLC)	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl	10 µl

Al vortex per 20 secondi

FASE 3 : Versare tutti i campioni precedentemente preparati nelle colonne di Clean-up e scaricare ad un flusso di 1 ml/ minuto (goccia a goccia) anche con l'ausilio di un vuoto moderato.

FASE 4 : Lavaggio delle colonne di Clean-up:

- Lavare con 1 ml di **Reagente D – Soluzione di Lavaggio 1**
Scartare l'eluato e portare a secco con un leggero flusso d'aria
- Lavare con 1 ml di **Reagente E – Soluzione di Lavaggio 2**
Scartare l'eluato e portare a secco con un leggero flusso d'aria
- Lavare con 1 ml di **Reagente F – Soluzione di Lavaggio 3**
Scartare l'eluato e portare a secco con un leggero flusso d'aria

FASE 5 : Aggiungere 1,0 ml di **Reagente G - Soluzione Eluente** **rigorosamente in provette di vetro con tappo in pyrex**

Portare a secco con un l'ausilio di un flusso di Elio o di Azoto (in questo step la Temperatura di lavoro deve essere < 40 °C).

FASE 6 : Riprendere con 100 µl di **Reagente H – Soluzione Derivatizzante 1**

Al vortex per 20 secondi

FASE 7 : Porre in stufa a 80 °C per 5 minuti

Lasciar raffreddare

FASE 8 : Aggiungere 30 µl di **Reagente I – Soluzione Derivatizzante 2**

Al vortex per 20 secondi

FASE 9 : Porre in stufa a 80 °C per 5 minuti

FASE 10 : Trasferire tutto il campione nelle vials con riduttore di volume

INIEZIONE :

- Iniettare 1 µl della soluzione nel GC

N.B.: i campioni vanno iniettati subito, non possono essere congelati per analisi differite.

AMFETAMINE urinarie - Avvertenze

REAGENTE J: SOLUZIONE TEST

Amfetamina	circa 5.000 ng/ml
Metamfetamina	circa 5.000 ng/ml
3,4-MDMA	circa 5.000 ng/ml
3,4-MDA	circa 5.000 ng/ml
3,4-MDE	circa 5.000 ng/ml
MBDB	circa 5.000 ng/ml

SETTAGGIO DEL GAS-CROMATOGRAFO :

- Colonna VF-5ms 30 m x 0,25 mm, 0,25 µm (condizionata)
- Temperatura iniettore 250 °C
- Rapporto di Splittaggio Inizio: ON split 20
0 min: OFF
1 min: ON split 100
3 min: ON split 20
- Temperatura 70 °C x 3.5 minuti + 40 °C/min fino a 190 °C + 10 °C/min fino a 250 °C x 10 minuti (corsa 22.5 minuti)
- Flusso in colonna: 1 ml/min

SETTAGGIO DETECTOR DI MASSA (4000) :

- Range di Massa 50 – 350
- Temperatura della Massa: 180 °C;
- Temperatura Transfer Line: 270 °C;
- Temperatura Manifold: 80 °C
- Filamento on: 5 minuti

CONDIZIONAMENTO DELLA COLONNA VF-5ms, DELLA SIRINGA E DEL LINER

Per la colonna seguire le prescrizioni del costruttore. All'inizio di ogni seduta analitica effettuare la calibrazione delle masse e delle RF.

PULIZIA DELLA COLONNA

Iniettare ACETONE prima e dopo la seduta analitica. Lavare la siringa prima dell'iniezione con ACETONE. Al termine di ogni seduta analitica effettuare la pulizia del Liner dell'iniettore ed eseguire il backout della trappola ionica.
Al termine di ogni seduta analitica portare il gradiente alla massima temperatura della colonna (consigliata dal costruttore) con velocità di 30 °C/minuto.
Vedere istruzioni del costruttore

ACCESSORI E CONSUMABILI

CODICE	DESCRIZIONE	CONFEZIONE
CC43016	Calibratore urinario per Amfetamine	5 x 2 x 5 ml
CC43019	Controllo multiparametrico per Droghe d'abuso – Livelli 1 e 2	2 x 6 x 5 ml
ZRE13623	Colonna Capillare Rxi-Sil 5MS (30 m x 0,25 mm) ID, DF=0,25	1 Pz
SCP8944	Colonna VF-5ms (30 m x 0,25 mm) ID DF=0,25	1 Pz
S29057U	Vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz
S29046U	Tappi per vial standard di vetro da 2 ml con tappo a vite	1 x 100 Pz
S24717	Riduttori di volume per vials da 2 ml	1 x 100 Pz

Amfetamine urinarie

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

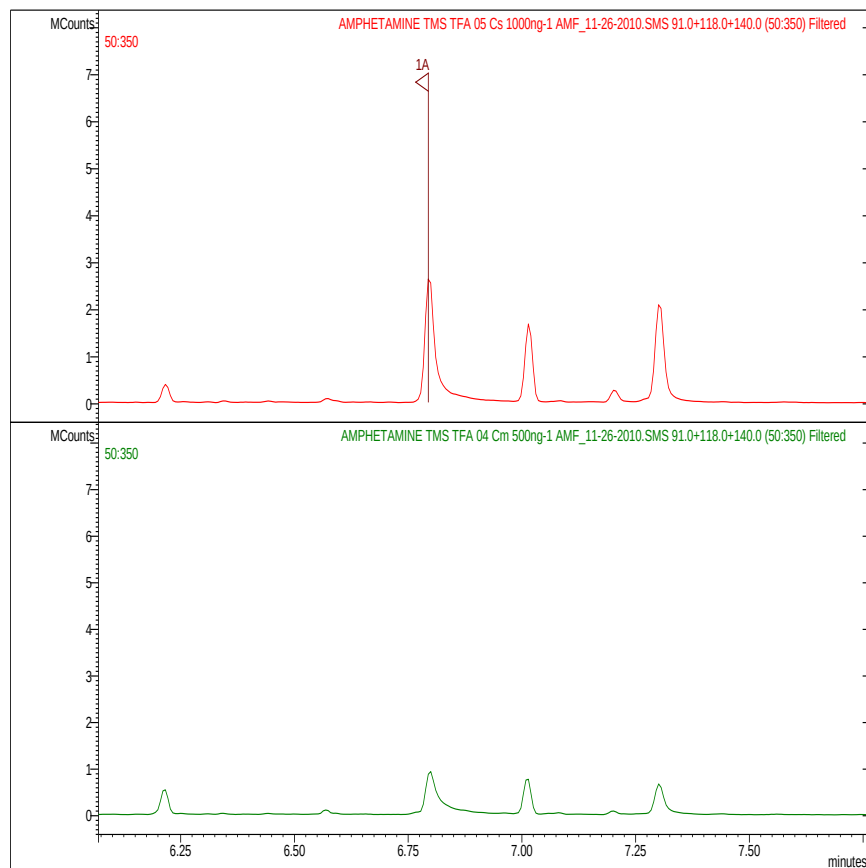


Fig. 1 :	Campione urinario Amfetamina
	R.T. 6.79 AMFETAMINA

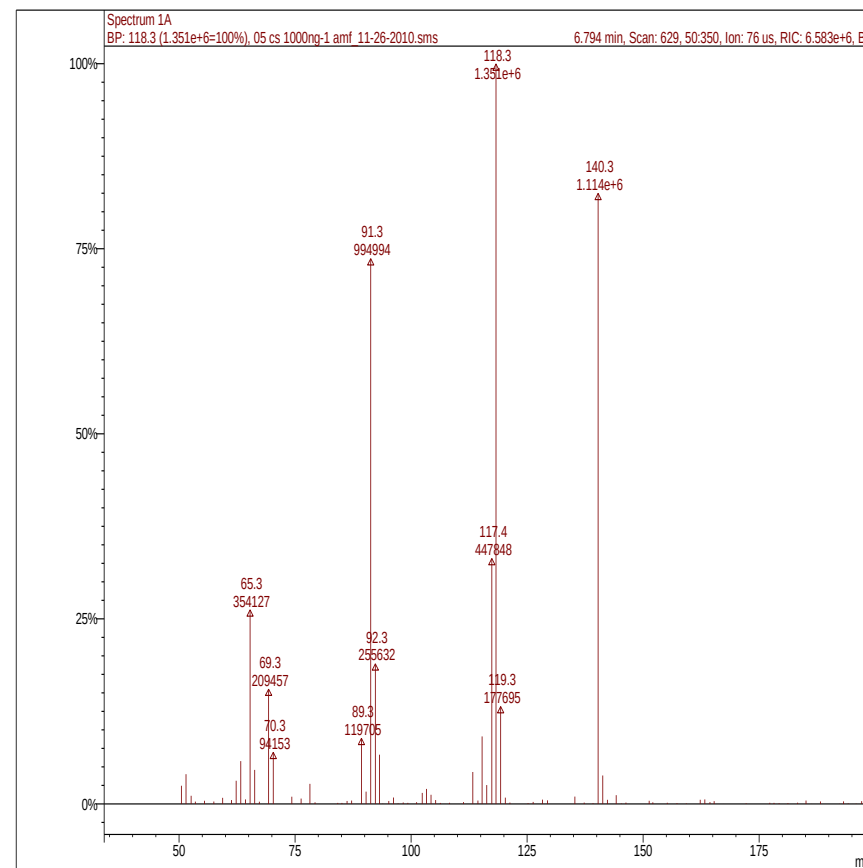


Fig. 2 :	Spettro di Massa Amfetamina
	IONI MOLECOLARI: 91-118-140

Amfetamine urinarie

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

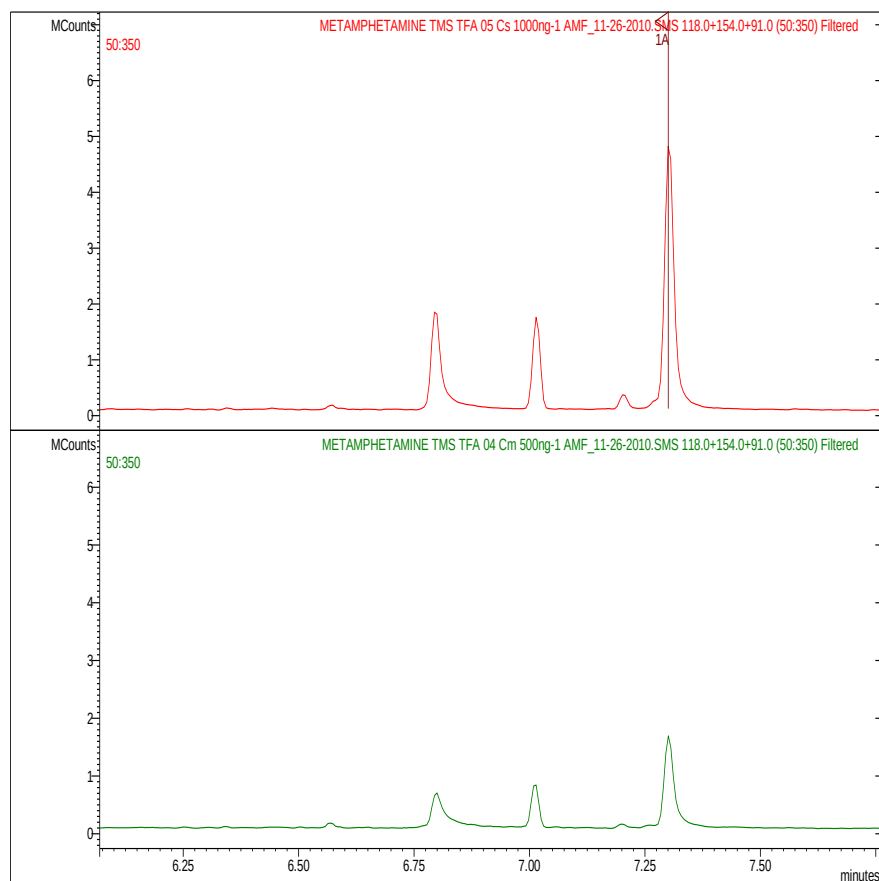


Fig. 3 :	Campione urinario Metamfetamina
	R.T. 7.30 METAMFETAMINA

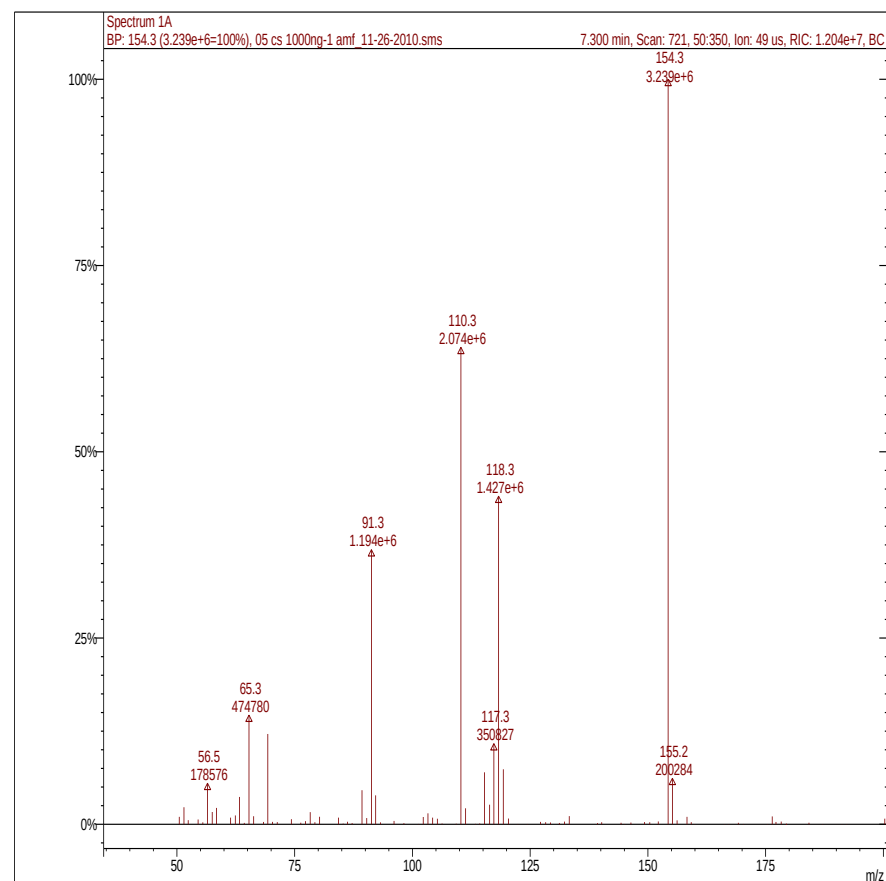


Fig. 4 :	Spettro di Massa Metamfetamina
	IONI MOLECOLARI: 91-110-118-154

Amfetamine urinarie (Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

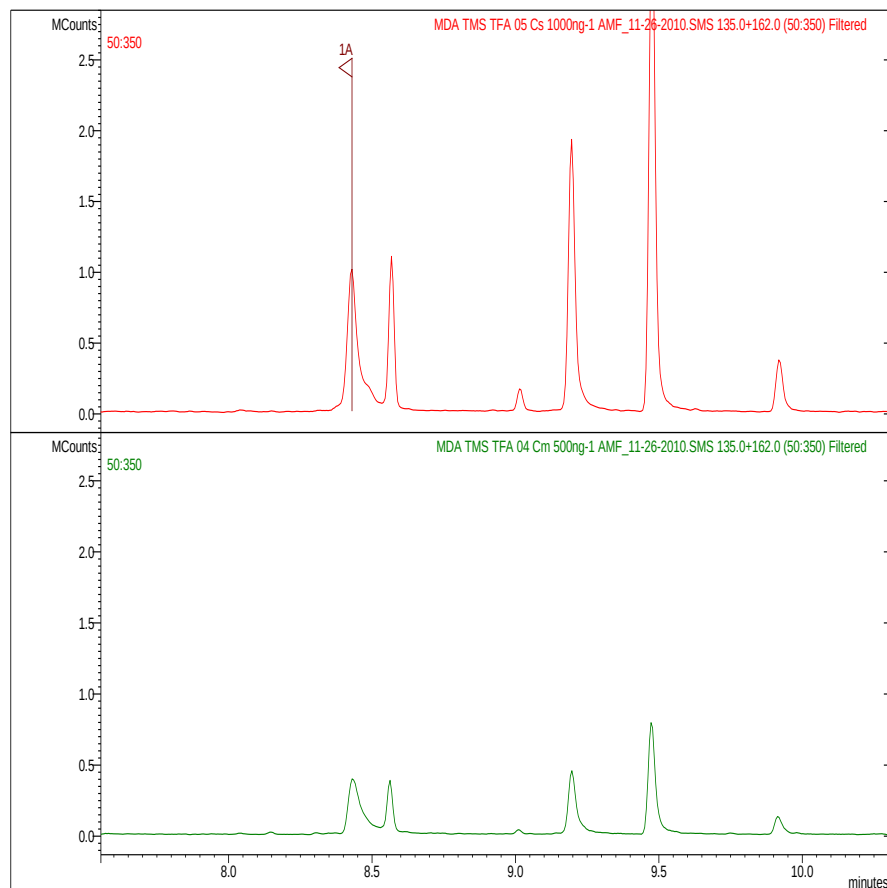


Fig. 11 :	Campione urinario 3,4-MDA
	R.T. 8.40 3,4-MDA

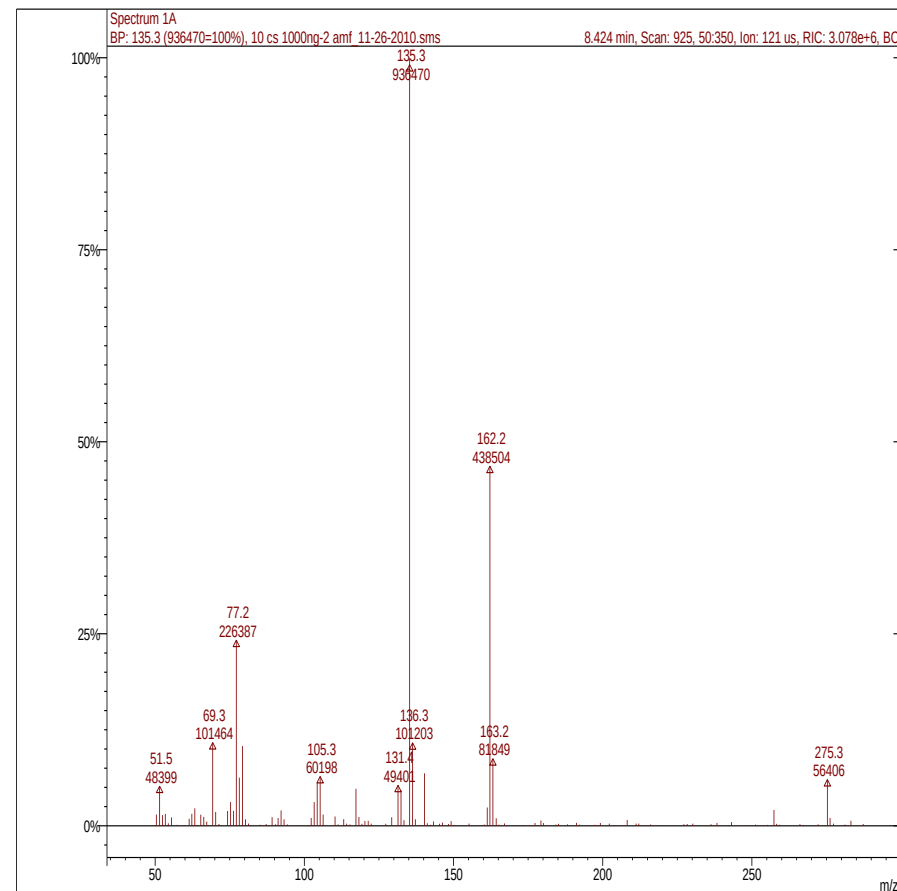


Fig. 12 :	Spettro di Massa 3,4-MDA
	IONI MOLECOLARI: 135-162-275

Amfetamine urinarie

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

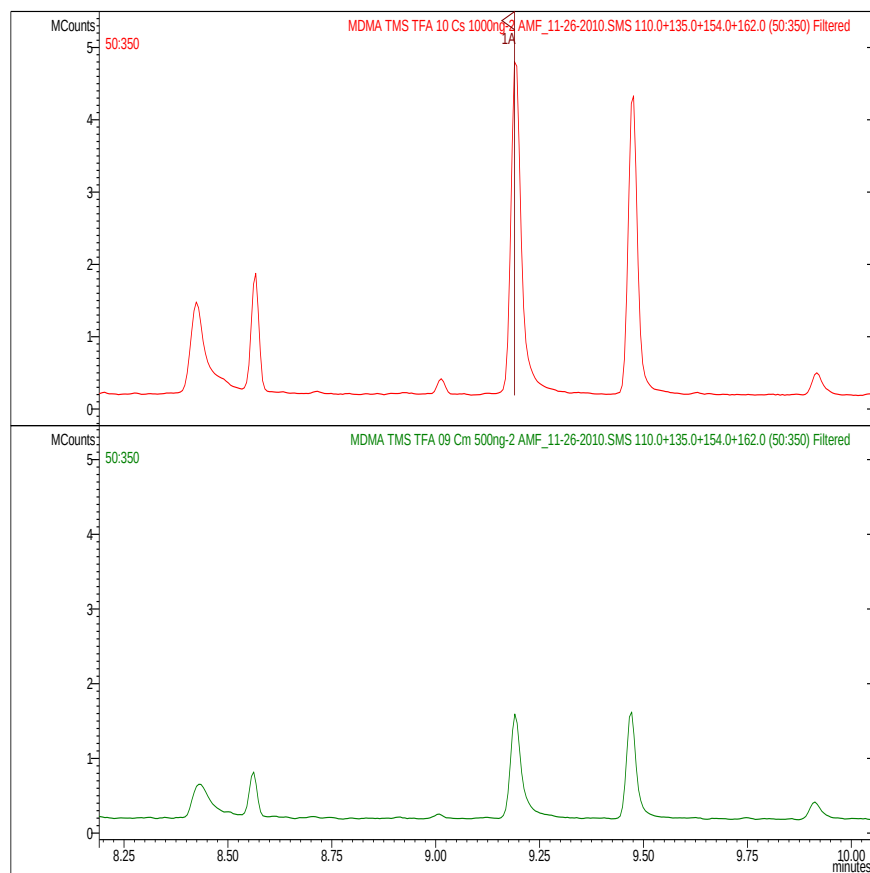


Fig. 13 :	Campione urinario 3,4-MDMA
	R.T. 9.20 3,4-MDMA

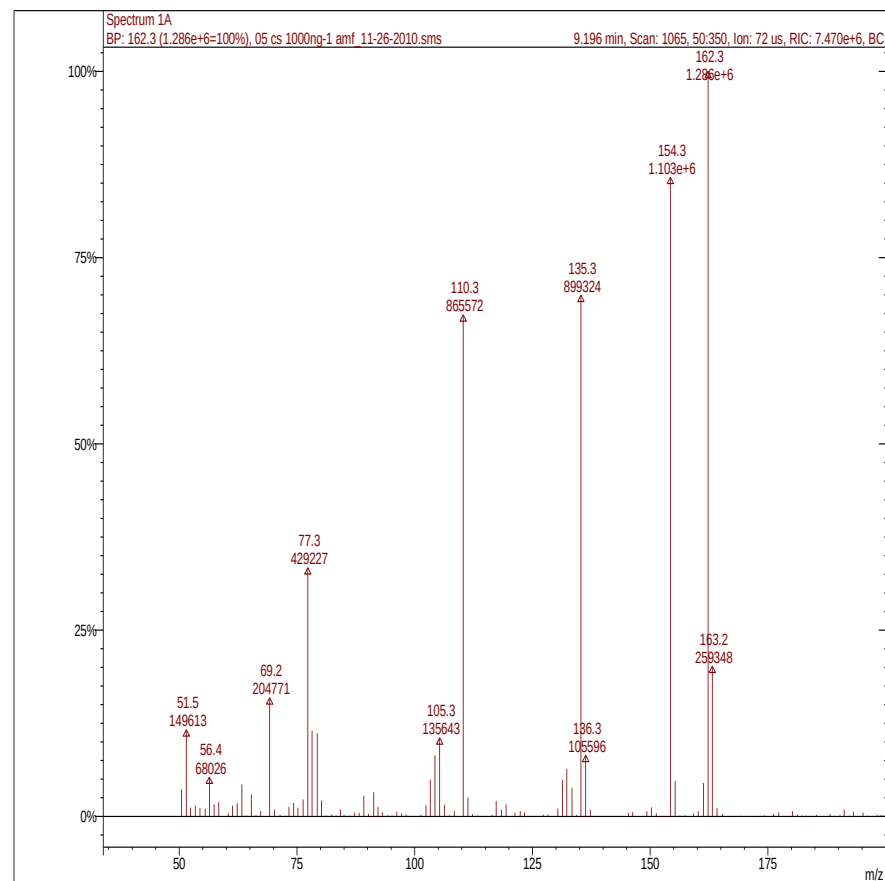


Fig. 14 :	Spettro di Massa 3,4-MDMA
	IONI MOLECOLARI: 110-135-154-162

Amfetamine urinarie (Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

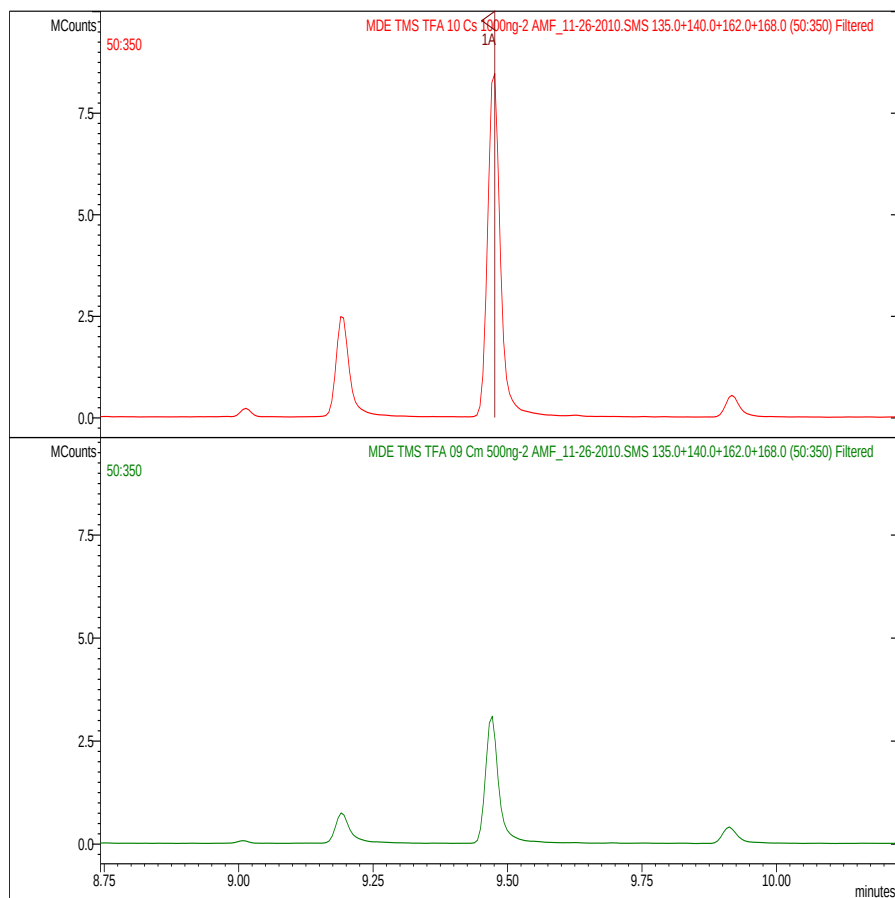


Fig. 15 :	Campione urinario 3,4-MDE
	R.T. 9.50 3,4-MDE

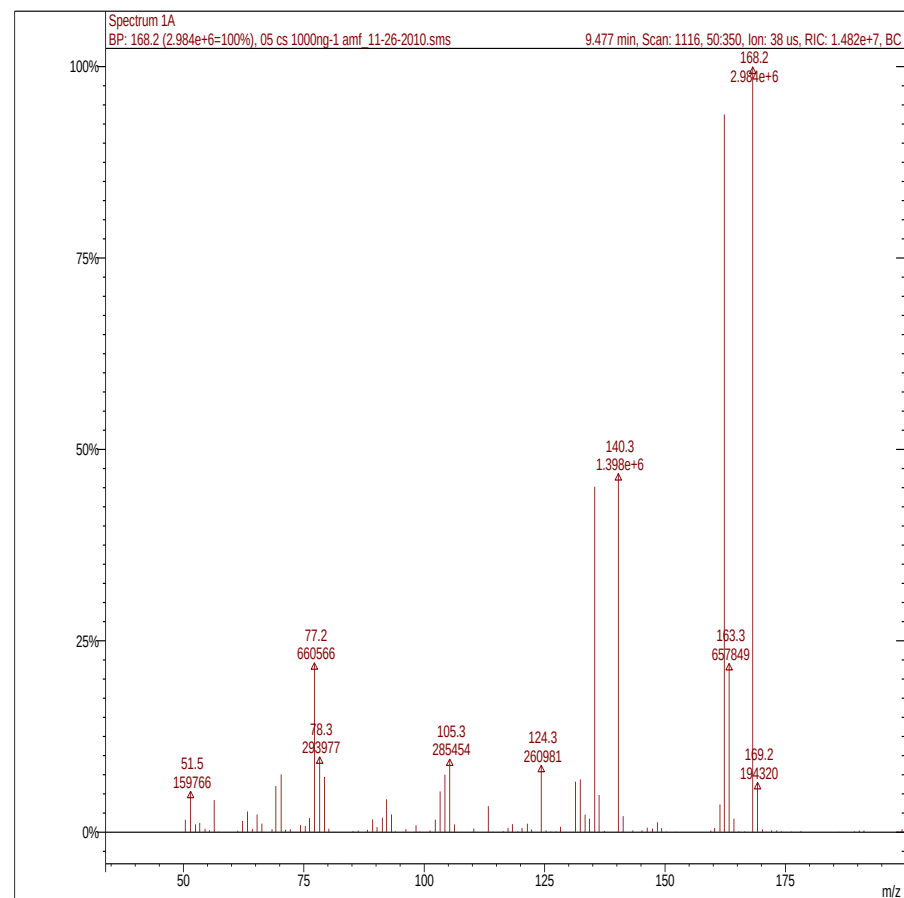


Fig. 16 :	Spettro di Massa 3,4-MDE
	IONI MOLECOLARI: 135-140-162-168

Amfetamine urinarie (Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

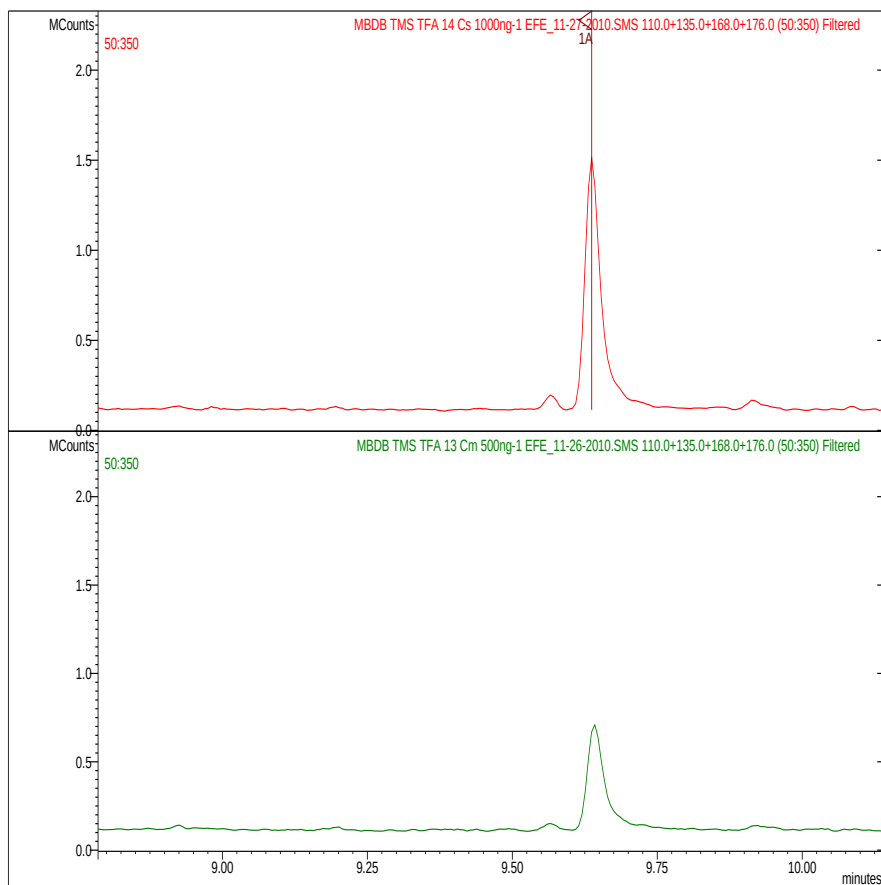


Fig. 17 :	Campione urinario MBDB
	R.T. 9.65 MBDB

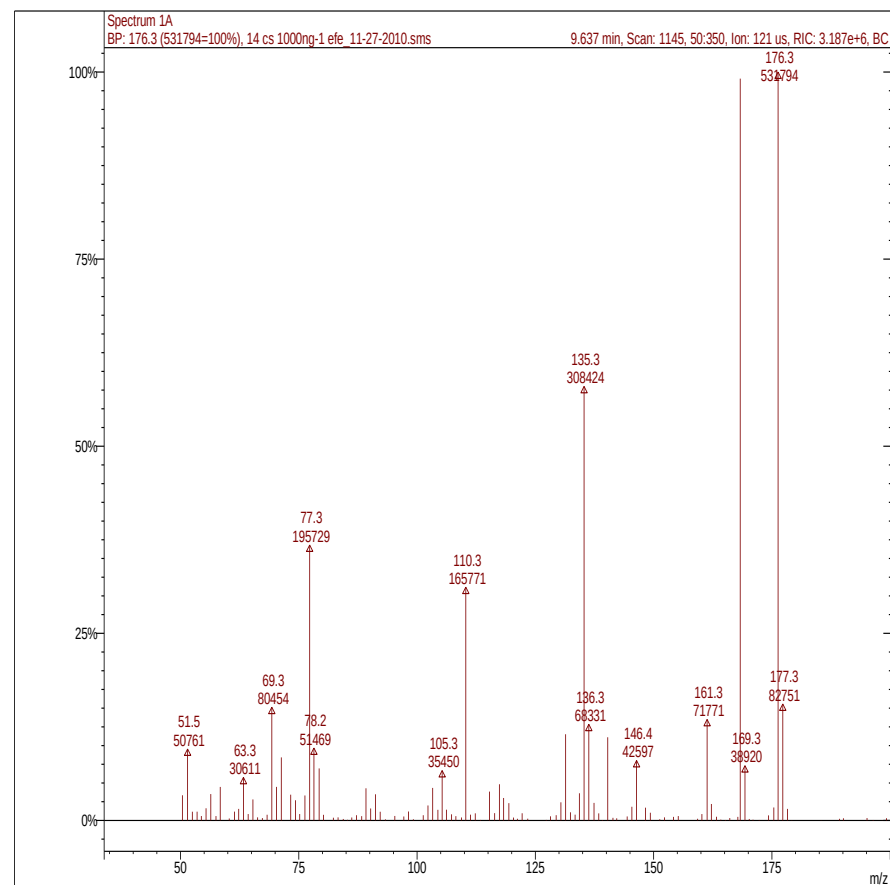


Fig. 18 :	Spettro di Massa MBDB
	IONI MOLECOLARI: 110-135-168-176

Amfetamine urinarie

(Cromatogrammi/Spettri di riferimento GC-MS)

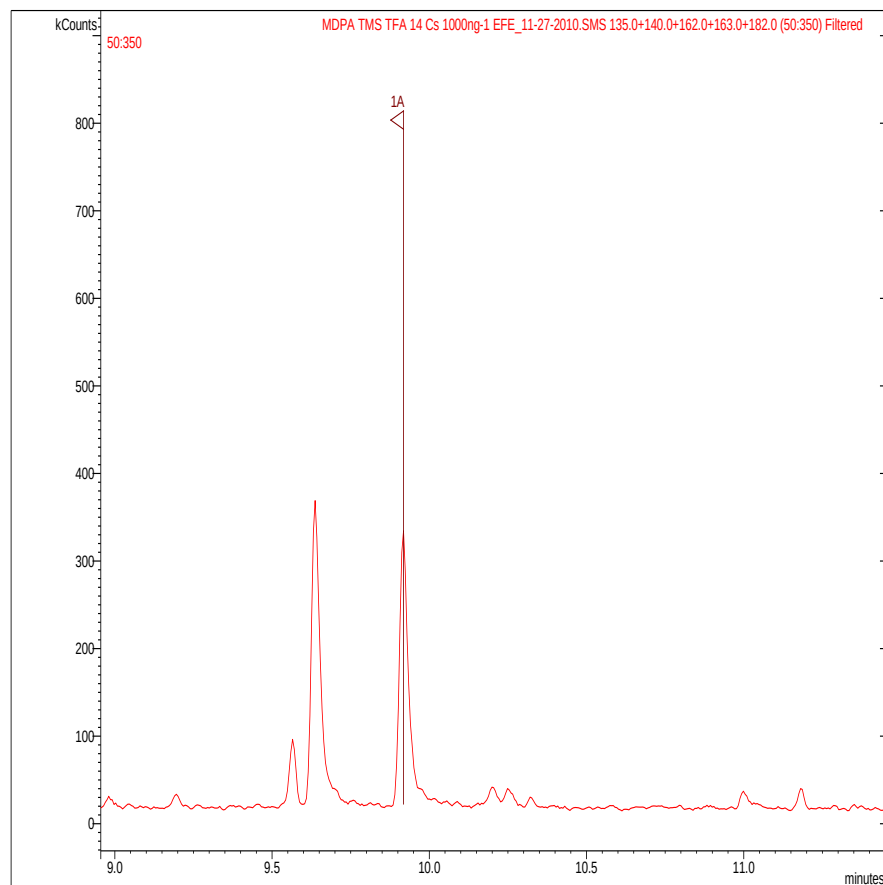


Fig. 19 :	Campione urinario Standard Interno
	R.T. 9.94 STANDARD INTERNO

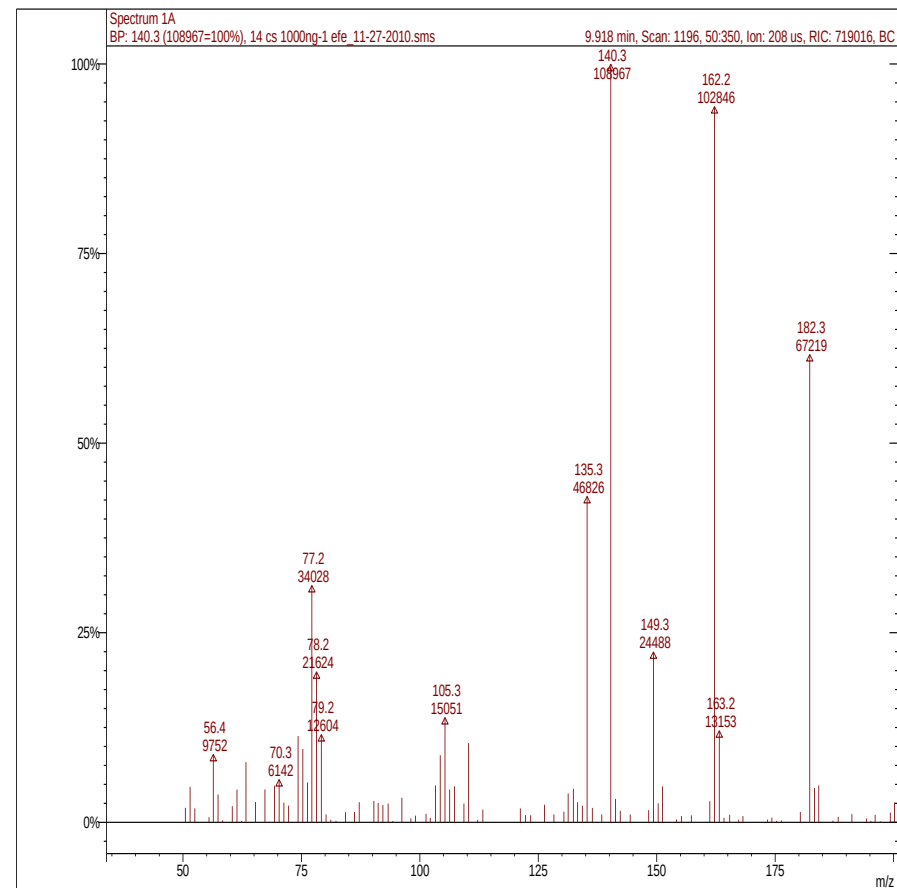


Fig. 20 :	Spettro di Massa Standard Interno
	IONI MOLECOLARI: 135-140-162-182